

POLIMERNA NANOVLAKNA ZA DOSTAVO UČINKOVIN IN REGENERACIJO TKIV PRI ZDRAVLJENJU RAKA

POLYMER NANOFIBERS FOR DRUG DELIVERY AND TISSUE REGENERATION IN CANCER TREATMENT

AVTORICE / AUTHORS:

Tanja Potrč, mag. farm.¹

prof. dr. Mateja Erdani Kreft, univ. dipl. biol.²

izr. prof. dr. Petra Kocbek, mag. farm.¹

¹ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko tehnologijo,
Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta,
Inštitut za biologijo celice,
Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: petra.kocbek@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Nanotehnologija odpira nove možnosti za bolj učinkovito in bolniku prijazno zdravljenje raka. V zadnjem času so na tem področju aktualne raziskave polimernih nanovlaken, saj omogočajo vnos različnih vrst protirakavih učinkovin in tudi podporno zdravljenje raka ter obnovo tkiv po operativnih posegih. Veliko obetajo zlasti nanovlakna za oralno uporabo, saj predstavlja sluznica ustne votline lahko dostopno in bolniku prijazno mesto za aplikacijo dostavnih sistemov na osnovi nanovlaken. Z elektrostatskim sukanjem lahko izdelamo polimerna nanovlakna za ciljano lokalno zdravljenje, npr. raka ustne votline, ali za sistemsko lajšanje neželenih učinkov klasične kemoterapije. Inovativen pristop pa predstavlja uporaba nanovlaken z vgrajenimi celicami, ki imajo velik potencial tako pri zdravljenju raka kot pri regeneraciji tkiv. Polimerna nanovlakna tako obetajo bolj učinkovito zdravljenje določenih rakavih bolezni ter izboljšanje kakovosti življenja onkoloških bolnikov.

KLJUČNE BESEDE:

dostava učinkovin, nanovlakna, regeneracija tkiv, ustna sluznica, zdravljenje raka

ABSTRACT

Nanotechnology offers new possibilities for more efficient and patient-friendly cancer treatment. Polymer nanofibers are in the focus of research in this area. They enable delivery of various types of anticancer drugs, as well as supportive cancer treatment and tissue regeneration after surgery. Nanofibers for oral use are particularly promising, since the oral mucosa is an easily accessible and patient-friendly site for the application of nanofiber-based delivery systems. The polymer nanofibers for local cancer treatment, e.g. oral cavity cancer, or systemic treatment of side effects associated with classical chemotherapy can be produced by electrospinning. Application of nanofibers with embedded cells represents an innovative approach showing great potential in both the cancer treatment and tissue regeneration. Polymer nanofibers are thus expected to enable more efficient treatment of certain cancers and to improve quality of life of cancer patients.

KEY WORDS:

cancer treatment, drug delivery, nanofibers, oral mucosa, tissue regeneration

1 UVOD

Rakave bolezni predstavljajo drugi najpogostejši vzrok smrti na svetu, takoj za srčno-žilnimi boleznimi. Po podatkih Svetovne zdravstvene organizacije se incidenca rakavih bolezni v zadnjih letih povečuje, s čimer postajajo vedno večji zdravstveni problem v svetovnem merilu (1). Pravočasna diagnostika bolezni igra ključno vlogo pri zdravljenju ter možnosti popolne ozdravitve. Uspešnost trenutno razpoložljivih postopkov zdravljenja je v veliki meri odvisna od stadija bolezni, pomemben parameter pa predstavlja tudi mesto bolezni (1, 2).

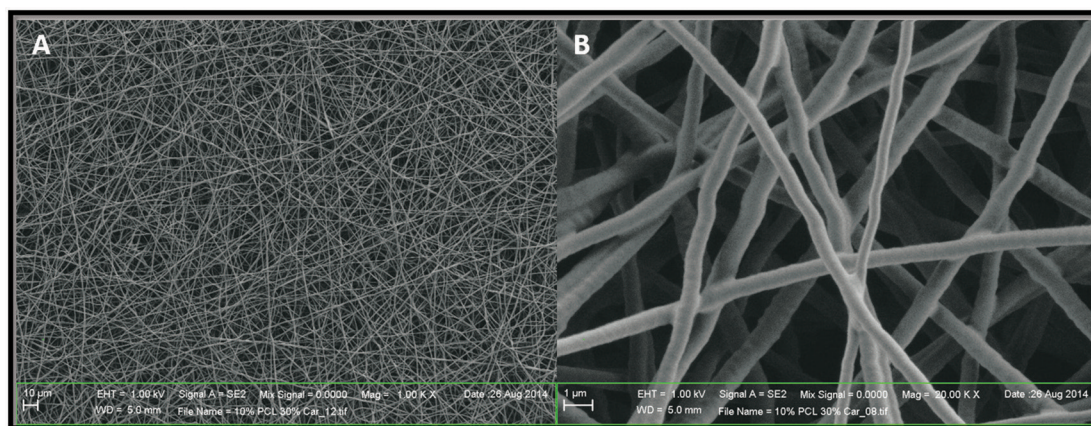
Največji težavi trenutno uveljavljenih terapevtskih pristopov za zdravljenje raka sta odpornost nekaterih oblik raka na razpoložljive pristope zdravljenja ter nespecifično porazdeljevanje zdravilnih učinkovin v organizmu, s čimer so povezani neželeni učinki (2). Po drugi strani pa poznamo vrsto potencialnih zdravilnih učinkovin, ki izkazujejo velik potencial za zdravljenje rakavih bolezni, vendar njihove specifične fizikalno-kemijske lastnosti ovirajo razvoj ustreznih farmacevtskih oblik ter njihov prihod na trg, saj ne zagotavljajo ustrezne učinkovitosti in/ali varnosti zdravila (3, 4).

Ciljano zdravljenje je zagotovo eden izmed najbolj zaželenih pristopov zdravljenja raka, saj zagotavlja dostavo in sproščanje zdravilne učinkovine na obbolelem mestu. Na ta način se učinkovitost zdravljenja poveča, neželeni učinki, ki lahko močno vplivajo na kakovost življenja bolnika, pa zmanjšajo (5). Nanotehnologija predstavlja v tem okviru zelo pomem-

beno področje, saj je v zadnjem obdobju z različnimi nanodravili, ki za dostavo učinkovin izkoriščajo nanodostavne sisteme, bistveno doprinesla k napredku ciljanega zdravljenja (6, 7, 8). Z uporabo naprednih nanodostavnih sistemov lahko na inovativen način izboljšamo farmakokinetične in farmakodinamske lastnosti že uveljavljenih ter potencialnih novih zdravilnih učinkovin za zdravljenje raka (4, 9). Zmanjšana velikost dostavnega sistema kot tudi delcev same učinkovine izboljša topnost ter biološko uporabnost učinkovine, kar omogoča zmanjšanje odmerka za doseg enakega terapevtskega učinka (10). Z uporabo nanodostavnih sistemov se podaljša razpolovni čas vgrajene zdravilne učinkovine, s čimer pa se zmanjša tudi število potrebnih odmerkov zdravila (4, 9). Nekateri nanodostavni sistemi omogočajo še premagovanje fizioloških pregrad v organizmu in vnos učinkovin na mesta, ki so s klasičnimi farmacevtskimi oblikami nedostopna (npr. vnos v možgane) (11). Poznamo več različnih vrst nanodostavnih sistemov, ki so jih že proučevali ali so že v klinični uporabi za diagnosticiranje in/ali zdravljenje raka, kot so liposomi, dendrimeri, polimerni in trdni lipidni nanodelci ter imunokonjugati. Velik, vendar še neizkoriščen potencial za uporabo pri zdravljenju raka pa izkazujejo nanovlakna (12, 13).

2 NANOVLAKNA

Nanovlakna (slika 1) so trdna vlakna s premerom od nekaj deset do 1000 nm in s teoretično neomejeno dolžino (14).



Slika 1: Polimerna nanovlakna, posneta z vrstičnim elektronskim mikroskopom pri (A) majhni in (B) veliki povečavi.
Figure 1: Scanning electron microscopy image of polymer nanofibers at (A) low and (B) high magnification.



Zanje je značilna relativno velika površina na enoto mase, velika poroznost mreže nanovlaken z majhno velikostjo intrafibrilarnih por (2 do 10 nm) (15), večja prožnost ter mehanska trdnost v primerjavi z istim materialom večjih dimenzij ter sposobnost tvorbe tridimenzionalne kontinuirane mreže. Zaradi edinstvenih fizikalnih in kemijskih lastnosti ter relativno enostavne izdelave zasedajo pomembno mesto v raziskavah na različnih področjih. V zadnjem času so v ospredju predvsem raziskave možnosti njihove uporabe na področju biomedicine (14, 16). Nanovlakna lahko izdelamo iz polimerov naravnega ali sinteznega izvora, ki predstavljajo ogrodje vlaken, v katero lahko vgradimo do več kot 30 % (m/m) zdravilne učinkovine (17). Izbira polimera (ali polimerov) kot ogrodnega materiala dostavnega sistema pomembno vpliva na končne lastnosti izdelka (18). Za uporabo v biomedicini je željeno, da so uporabljeni materiali biokompatibilni in biorazgradljivi (16).

Polimerna nanovlakna izdelamo z različnimi postopki, med katerimi velja elektrostatsko sukanje za eno najenostavnejših in najcenejših metod, ki omogoča kontinuirano in standardizirano pripravo nanovlaken iz raztopin ali talin različnih polimerov (13).

2.1 PRIMERI UPORABE NANOVLAKEN PRI ZDRAVLJENJU RAKA

Nanovlakna izkazujejo zaradi svojih specifičnih lastnosti obetavne rezultate na področju diagnostike in zdravljenja bolezni ter regeneracije tkiv (5). Še zlasti pomembno področje, na katerem predvsem v zadnjem desetletju potekajo obsežne raziskave, je diagnosticiranje ter zdravljenje rakavih bolezni. Raziskovalna skupina Ma in sod. je kot ena prvih začela raziskave na področju nanovlaken in izkoriščanja njihovega potenciala pri zdravljenju raka (19). Predstavili so večstopenjsko pripravo hidrofilnih nanovlaken z vgrajenim paklitakselom, citostatikom novejša generacije. V prvem koraku so s pomočjo elektrostatskega sukanja pripravili vlakna iz polietilenoksida in hitosana. Nastala vlakna so nato za 10 ur namočili v prečiščeno vodo, pri čemer so selektivno odstranili polietilenoksid in dobili porozna hitosanska vlakna. Nato so vlakna za nadaljnjih 8 ur izpostavili 0,1-odstotni (m/m) raztopini paklitaksela, da se je le-ta vgradil v pore vlaken. V zadnjem koraku so v sistem dodali še hialuronsko kislino, pri tem je prišlo do elektrostatskih interakcij med pozitivno nabitimi molekulami hitosana in negativno nabitimi molekulami hialuronske kisline. Na tak način je nastala zunanja plast vlaken. Učinkovitost vlaken so preizkušali *in vitro* na rakavi celični liniji prostate DU145 in dobili obetavne rezultate, saj sta se zmanjšali tako ad-

hezija kot proliferacija celic. Dobljeni rezultati kažejo velik potencial dostavnega sistema na osnovi nanovlaken za uporabo pri postoperativni kemoterapiji raka prostate (19). Amna s sod. je proučeval sistem polikaprolaktonskih nanovlaken z vgrajenim kamptotecinom, ki ga uvrščamo med zaviralce topoizomerase I (20). Osnovni cilj raziskave je bil izboljšati stabilnost in topnost učinkovine ter doseči bolj učinkovito protitumorno delovanje. Citotoksičnost izdelanega dostavnega sistema so proučevali na mišji mioblastni celični liniji C2C12, pri čemer so kot kontrolo uporabili učinkovino v prosti obliki ter polikaprolaktonska vlakna brez vgrajenega kamptotecina. V primerjavi z obema kontrolama so nanovlakna z vgrajeno učinkovino izkazovala večjo citotoksičnost. Dokazali so, da je slednje posledica povečane stabilnosti kamptotecina v nanovlaknih. Zaradi velike površine na enoto mase nanovlaken se je znatno povečala tudi topnost zdravilne učinkovine. Poleg tega predvidevajo, da se je v prisotnosti nanovlaken povečal privzem kamptotecina v celice, kar še dodatno utemeljuje bistveno večjo citotoksičnost sistema. Rezultati tako kažejo, da z vgrajevanjem v nanovlakna izboljšamo terapevtsko učinkovitost kamptotecina ter drugih slabo topnih protitumornih učinkovin (20).

Za zagotavljanje varnosti tovrstnih nanodostavnih sistemov bi bilo v prihodnje pomembno izvesti še dodatna testiranja na zdravih celicah ter dokazati učinek tudi na kompleksnejših 3D modelih *in vitro*. Tudi raziskovalna skupina Guimarães, ki je s pomočjo elektrostatskega sukanja izdelala nanovlakna iz kopolimera mlečne in glikolne kisline z vgrajenim zaviralcem DNA-topoizomerase tipa II, davnorubicinom, se je dokopala do zanimivih izsledkov. Ugotovili so, da davnorubicin, vgrajen v polimerna nanovlakna, izkazuje večjo citotoksičnost *in vitro* na humanih epidermoidnih celicah A431 v primerjavi z učinkovino v prosti obliki. Prav tako so rezultati testiranja na miših pokazali, da vgradnja davnorubicina v nanovlakna v primerjavi z njegovo prosto obliko deluje antiangiogeno, tj. zmanjša vaskularizacijo tkiva. V okviru testiranja *in vivo* so tudi potrdili, da sistem nanovlaken z vgrajenim davnorubicinom ne povzroča vnetnega odziva (21).

V zadnjem času pridobivajo na pomenu tudi dvo- ali večslojna vlakna. Sestavljena so iz jedra ter ene ali več ovojnic. Predstavljajo velik potencial na področju razvoja dostavnih sistemov s prirejenim sproščanjem, tkivnega inženirstva in izdelave nanovlaken z modificirano površino. Tovrstna vlakna omogočajo vgrajevanje težko topnih učinkovin in biomakromolekul (npr. DNA, proteinov in rastnih dejavnikov) v notranji sloj vlaken, kar preprečuje neposredni stik učinkovine z dejavniki iz okolja, ki lahko vplivajo na njeno bio-

loško aktivnost ali jo inaktivirajo (22–26). Pridobivamo jih s prirejeno metodo elektrostatskega sukanja, pri kateri uporabljamo koaksialno šobo (27, 28).

Raziskovalna skupina Yan in sod. je izdelala dvoslojna nanovlakna iz polivinilalkohola v jedru in hitosana v ovojnici nanovlaken. Če sta tako jedro kot ovojnica dvoslojnih nanovlaken zgrajena iz hidrofilnih polimerov, velja, da nanovlakna ne omogočajo nadzorovanega sproščanja vgrajene zdravilne učinkovine. Tak sistem začne takoj po stiku z medijem nabrekati ter s tem sproščati vgrajeno zdravilno učinkovino. Z ozirom na dejstvo, da sta tako polivinilalkohol kot tudi hitosan hidrofilna polimera, so Yan in sod. rešili težavo s prehitrim sproščanjem doksorubicina tako, da so uporabili modificiran hitosan, ki je bil premrežen z glutaraldehidom, s čimer so učinkovito zmanjšali nabrekanje polimernih verig. Kot modelno zdravilno učinkovino so uporabili antraciklinski antibiotik doksorubicin, ki so ga vgradili v jedro nanovlaken. S pomočjo testa MTS, ki omogoča kolorimetrično vrednotenje mitohondrijske aktivnosti ter s tem posredno vrednotenje celične proliferacije, so dokazali, da so polimerna nanovlakna brez vgrajene zdravilne učinkovine biokompatibilna (26). Primerjava učinka doksorubicina v nanovlaknih in doksorubicina v prosti obliki je pokazala, da ima slednji v prosti obliki značilno večjo citotoksičnost za proučevane celice raka jajčnika SKOV3. V klinični praksi zdravljenja raka visoka koncentracija učinkovine na mestu delovanja, dosežena v zelo kratkem času, ni vedno zaželena, saj se lahko kot posledica prehitrega in neselektivnega sproščanja zdravilne učinkovine pojavijo številni sistemski neželeni učinki. Raziskave predstavljenega nanodostavnega sistema so pokazale, da lahko s spreminjanjem debeline zunanjega sloja, tj. ovojnice iz hitosana, na enostaven način spreminjamo profil sproščanja vgrajene učinkovine, da dosežemo takšnega, ki bo zagotavljal učinkovitost dostavnega sistema in čim manj neželenih učinkov glede na specifičnost posamezne rakave bolezni. Učinkovitost sproščenega doksorubicina iz dvoslojnih nanovlaken na preizkušanih celičnih linijah je bila zadovoljiva, saj sta se zmanjšali tako adhezija kot proliferacija rakavih celic. Dvoslojna nanovlakna tako ponujajo širok spekter možnosti uporabe v biomedicini. Velik potencial se kaže predvsem na področju razvoja formulacij kemoterapevtikov z nadzorovanim sproščanjem (26).

Zhang s sod. je razvil večplastna nanovlakna za implantiranje na obolelo mesto po operativni odstranitvi raka z namenom preprečevanja ponovitve bolezni. Izdelali so štiriplastna vlakna. Spodnjo plast, ki je bila v stiku z obolelim mestom, so predstavljala vlakna iz polimlečne kisline z vgrajenim dikloroacetatom, nad njo je bila plast praznih

nanovlaken iz polimlečne kisline, temu je sledila plast vlaken z vgrajenim oksaliplatinom ter povrh še plast iz polimlečne kisline. Učinkovini sta se iz sistema sproščali v dveh pulzih, sam učinek pa je bil še dodatno okrepljen zaradi njunega sinergističnega delovanja. Po implantiranju na obolelo mesto se je iz sistema najprej sprostil dikloroacetat, ki zavira delovanje encima piruvat dehidrogenaza kinaza in selektivno sproža apoptozo rakavih celic. V določenem časovnem zamiku, ki so ga ustrezno prilagodili z debelino plasti praznih vlaken iz polimlečne kisline, se je iz sistema sprostil še oksaliplatin, ki je sprožil celično smrt preostalih rakavih celic. Slednji je sicer toksičen tudi za zdravo tkivo, vendar je zaradi lokalne aplikacije ter sinergističnega delovanja z dikloroacetatom potreben bistveno manjši odmerek, kot če bi uporabili samo oksaliplatin, kar posledično povzroča manj sistemskih neželenih učinkov. Učinkovitost sistema večplastnih nanovlaken z vgrajenima učinkovinama, ki delujeta sinergistično pri zdravljenju raka materničnega vratu po operativni odstranitvi raka, so dokazali s pomočjo testov *in vitro* na humanih celičnih linijah raka materničnega vratu in testov *in vivo* na miših (29).

2.1.1 Podporno zdravljenje raka z mukoadhezivnimi dostavnimi sistemi na osnovi nanovlaken za aplikacijo na ustno sluznico

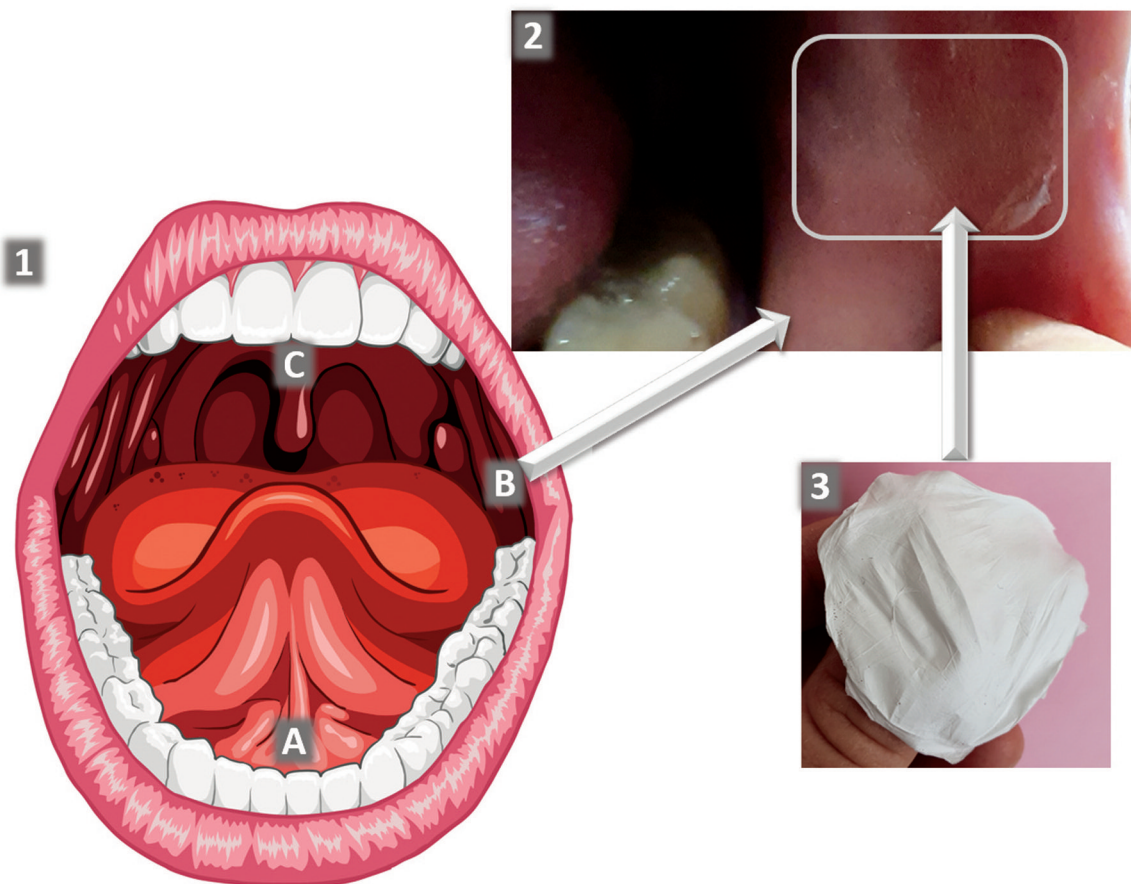
Narava nanovlaken in njihove specifične lastnosti omogočajo razvoj mukoadhezivnih dostavnih sistemov. Velika specifična površina nanovlaken lahko tvori interakcije s tkivi. Ob stiku z mukusom takoj nastopi absorpcija vlage v pore nanovlaken, kar je razlog za intenzivno adhezijo na površino sluznic (11), kot so npr. vaginalna, nosna, očesna sluznica ter sluznica ustne votline (30). Z vidika osnovnega in podpornega zdravljenja raka ter nekaterih drugih bolezni predstavlja zlasti sluznica ustne votline ugodno mesto za aplikacijo mukoadhezivnih dostavnih sistemov (31). V primerjavi s peroralno aplikacijo, ki še vedno velja za najpogostejši in s strani bolnikov najbolj sprejemljiv način vnosa zdravilnih učinkovin, zagotavlja aplikacija na ustno sluznico bolj konstantne ter manj agresivne pogoje. Zraven tega se z vnosi zdravilnih učinkovin preko sluznice ustne votline izognemo metabolizmu prvega prehoda, ki je v veliki meri odgovoren za inaktivacijo nekaterih zdravilnih učinkovin ter posledično njihovo neprimernost za peroralni vnos (30, 31). Sluznica ustne votline je dobro prekrvljena, kar omogoča absorpcijo učinkovin v sistemski krvni obtok. Zaradi enostavne in neboleče aplikacije bolniki tak način aplikacije dobro sprejmejo, kar je izrednega pomena na poti do uspešne ozdravitve (32). Takšni mukoadhezivni dostavni sistemi

so primerni tudi za otroke (32), starejše in druge bolnike, ki imajo težave s požiranjem (33).

Pri načrtovanju dostavnega sistema za aplikacijo v ustih se moramo zavedati tudi določenih omejitev, ki veljajo pri aplikaciji zdravil v ustno votlino. Pomembno je, da imajo zdravilne učinkovine, ki jih želimo vnašati v ustno votlino, ustrezne fizikalno-kemijske lastnosti. Pri tem igra zelo pomembno vlogo molekulska masa zdravilne učinkovine, ki naj ne bi presegala 800 Da, njena priporočena vrednost log P (voda/oktanol) pa mora biti okrog 2 (32). To pomeni, da mora biti učinkovina relativno dobro vodotopna oz. vgrajena v ustrezen (nano)dostavni sistem, ki izboljša njeno topnost. Učinkovina ne sme povzročati iritacije po nanosu (32). Zaradi relativno majhne površine ustne votline, ki je ustrezna za absorpcijo zdravilnih učinkovin, je ta način vnosa primeren le za visokopotentne zdravilne učinkovine.

Velik izziv pri aplikaciji zdravilnih učinkovin na ustno sluznico predstavlja tudi prisotnost sline (32). Slina ima vlogo lubrikanta, omogoča požiranje, tvori protibakterijsko proteinsko zaščitno oblogo na zobeh ter preprečuje demineralizacijo zob, sodeluje pa tudi pri razgradnji ogljikovih hidratov. Predstavlja pa tudi medij za raztapljanje učinkovin. Njen volumen pri odraslem človeku znaša le 1,1 mL (30). Pri načrtovanju dostavnih sistemov za aplikacijo na ustno sluznico se moramo zavedati, da prihaja zaradi spiranja s slino do izgub učinkovine, preden se le-ta absorbira skozi ustno sluznico (32, 34).

Sluznico ustne votline v grobem delimo na podjezično oz. sluznico ustnega dna, bukalno oz. lično sluznico ter trdo nebo (slika 2) (30). Za aplikacijo farmacevtskih oblik ima najbolj ugodne lastnosti bukalna sluznica, saj je lahko dostopna, skorajda nepremična in dobro prekrvljena (30, 34).



Slika 2: (1) Shematski prikaz ustne votline: (A) podjezična oz. sluznica ustnega dna, (B) bukalna oz. lična sluznica in (C) trdo nebo; (2) nanovlakna na bukalni sluznici; (3) makroskopski izgled nanovlaken pred aplikacijo.

Figure 2: (1) Schematic representation of the oral cavity: (A) sublingual, (B) buccal and (C) palatal mucosa (C); (2) nanofibers on the buccal mucosa; (3) macroscopic appearance of nanofibers before application.

Prav tako je najmanj podvržena motnjam, ki so posledica govorjenja, prehranjevanja in premikanja jezika. Zaradi nekeratiniziranega večskladnega ploščatega epitelijskega tkiva je bistveno bolj permeabilna kot trdo nebo, ki je zgrajeno iz keratiniziranega večskladnega ploščatega epitelijskega tkiva (31). Permeabilnost bukalne sluznice je v primerjavi s podjezično sluznico nekoliko slabša, vendar je pri aplikaciji na sluznico ustnega dna bistveno bolj izražena izguba učinkovine zaradi spiranja s slino, saj je na tem območju največje število izvodil žlez slinavk (30).

Ustna votlina predstavlja zelo priročno mesto za aplikacijo dostavnih sistemov na osnovi nanovlaken. Takšni dostavni sistemi so lahko namenjeni bodisi lokalnemu zdravljenju raka ustne votline bodisi zdravljenju neželenih učinkov, ki se pojavljajo kot posledica kemoterapije (npr. glivične okužbe in lezije v ustih, slabost) (5). Rak ustne votline in ustnega dela žrela predstavlja približno 3 % rakov, ki jih letno odkrijejo v Sloveniji. Navkljub precejšnjemu napredku pri zdravljenju karcinomov ustne votline, je preživetje teh bolnikov še vedno relativno nizko, saj podatki kažejo, da znotraj petletnega obdobja preživi zgolj 55 % obolelih (35). Slednje lahko v veliki meri pripišemo slabemu poznavanju bolezni, pogosto pozni diagnostiki ter začetku zdravljenja bolezni.

Osnovni namen zdravljenja malignih tumorjev ustne votline je v prvi vrsti popolna odstranitev rakavega tkiva, prav tako pa mora biti v najboljši možni meri zagotovljena rekonstrukcija, torej obnovitev oblike in funkcije ustne votline. Pri zdravljenju karcinoma ustne votline še vedno ni enotnih meril in protokolov, zaželeno pa je, da se pri načrtovanju zdravljenja osredotočimo na eno samo metodo. Trenutno najpogosteje posegajo po kirurškem zdravljenju ter obsevanju, vendar sta obe metodi precej invazivni ter s tega vidika slabše sprejeti pri bolnikih (35).

Mukoadhezivna nanovlakna z vgrajenim citostatikom za aplikacijo na obolelo sluznico ustne votline predstavljajo dobro alternativo trenutno razpoložljivim postopkom zdravljenja. Takšno zdravljenje bi bilo lokalno, zato bi bili neželeni učinki, do katerih zelo pogosto prihaja pri sistemski kemoterapiji ali obsevanju, bistveno manj izraženi, bi pa bilo tovrstno zdravljenje omejeno na bolnike, pri katerih karcinom ustne votline odkrijejo v zgodnjem stadiju. Raziskovalna skupina Singha se je ukvarjala z razvojem mukoadhezivnih nanovlaken iz polivinilalkohola za vnos protitumorne učinkovine iz družine taksanov (docetaksel) skozi sluznico ustne votline. Na podlagi testiranja *in vitro* na celični liniji raka dojke T47D so dokazali večjo citotoksičnost docetaksel, vgrajenega v nanovlakna, v primerjavi s samo učinkovino. Večja citotoksičnost daje možnost razvoja dostav-

nega sistema, kamor bi lahko vgradili manjši odmerek učinkovine, s čimer bi bili bistveno manj izraženi tudi neželeni učinki (36).

Pri velikem številu bolnikov, ki se zdravijo s kemoterapijo, pride zaradi zmanjšanja imunske odpornosti tudi do pojava kandidoze v ustni votlini (37). Bolezen se največkrat izraža z bolečimi razjedami v ustni votlini ter ustnicah. Zaradi pogostih krvavitev ter prisotne bolečine, ki je lahko bodisi blaga ali pa zelo huda, kar je odvisno predvsem od razsežnosti bolezni ter od splošnega zdravstvenega stanja bolnika, prihaja do težav pri negi ustne votline, govorjenju, zaradi oteženega požiranja pa tudi pri prehranjevanju in pitju (37, 38). Vse to vodi v izgubo telesne mase, k še večji oslavitvi imunskega sistema ter bistveno slabši kakovosti življenja bolnikov (39).

Tonglarium s sod. je raziskoval različne možnosti uporabe nanovlaken na osnovi hitosana in polivinilalkohola z vgrajenim klotrimazolom za lokalno zdravljenje oralne kandidoze. Z uporabo različnih testov so proučevali protiglivično delovanje nanovlaken in njihovo morebitno citotoksičnost. Izkazalo se je, da imajo preskušana nanovlakna bistveno hitrejšo ter učinkovitejšo protiglivično delovanje kot komercialno dostopne pastile s klotrimazolom. Ugotovili so tudi, da dostavni sistem na humane fibroblaste, izolirane iz dlesni zdravih prostovoljcev, ni deloval toksično (40).

Ista skupina raziskovalcev je izdelala tudi dvoplastna nanovlakna s klotrimazolom, s pomočjo katerih so želeli izboljšati mukoadhezivnost sistema ter podaljšati čas sproščanja učinkovine. Izdelali so notranjo plast vlaken iz polivinilpirolidona ter hidroksipropil- β -ciklodekstrina z vgrajenim klotrimazolom in nato dodali še zunanjo plast iz polivinilalkohola ter sintezno spremenjenega hitosana z vezanim cisteinom. Ugotovili so, da je v primeru vlaken z večjo debelino zunanje plasti prišlo do počasnejšega sproščanja učinkovine zaradi podaljšane difuzije klotrimazola čez plast polimerov, obenem pa je zunanja plast nanovlaken izboljšala njihovo mukoadhezivnost na sluznico ustne votline. Na sevu kandidate (*Candida albicans* ATCC 90028) je bilo potrjeno boljše protiglivično delovanje nanovlaken s klotrimazolom v primerjavi s komercialno dostopnimi pastilami, test *in vitro* citotoksičnosti na humanih fibroblastih gingive pa je potrdil varnost uporabe izdelka. Obe formulaciji nanovlaken izkazujeta velik potencial za nadaljnje raziskave *in vivo* za namen zdravljenja kandidoze ustne votline (41).

Tudi slabost in bruhanje spadata med vodilne neželene učinke pri rakavih bolnikih, ki se zdravijo s kemoterapijo. Po podatkih iz literature prizadeneta kar med 60 in 80 % vseh onkoloških bolnikov. Pri bolnikih povzročata še do-

daten stres, hkrati pa bistveno zmanjšujeta sodelovanje bolnikov pri predpisnem zdravljenju (42). Težava se pojavi tudi pri vnosu antiemetikov. Pri bolnikih s slabostjo klasične peroralne farmacevtske oblike (tablete in kapsule) namreč niso ustrezne za vnos antiemetikov, saj jih večina bolnikov izbruha, še preden nastopijo sproščanje in absorpcija zdravilne učinkovine iz gastrointestinalnega trakta ter sistemski učinek. Zaradi tega so zelo aktualne raziskave orodisperzibilnih filmov, ki omogočajo takojšnje sproščanje vgrajene učinkovine. Orodisperzibilni filmi na osnovi nanovlaken izkazujejo zaradi svojih specifičnih lastnosti velik potencial za izboljšanje absorpcije zdravilnih učinkovin tako iz ustne votline kot iz gastrointestinalnega trakta.

Na tem področju deluje raziskovalna skupina Vuddanda, ki je izdelala nanovlakna iz polivinilalkohola z vgrajenim ondasetronom. Le-ta je selektivni antagonist receptorjev 5HT₃ in je eden najpogostejše uporabljenih antiemetikov. Zahvaljujoč svoji nanometrski strukturi ter hidrofilnim lastnostim uporabljenega polimera omogoča izdelani dostavni sistem zelo hitro sproščanje (90 s) vgrajene učinkovine. Tako predstavljajo polivinilalkoholna nanovlakna alternativo vsem že obstoječim farmacevtskim oblikam, namenjenim oralni aplikaciji antiemetičnih zdravilnih učinkovin (43).

Tudi naša raziskovalna skupina se ukvarja z razvojem nanovlaken za uporabo na bukalni sluznici. Dokazali smo, da lahko z vgradnjo slabo topnih zdravilnih učinkovin v nanovlakna, kamor uvrščamo tudi številne antiemetike, izboljšamo njihovo hitrost raztapljanja. S tem se odpira možnost uporabe takšnega tehnološkega pristopa za številne učinkovine, ki sicer izkazujejo velik terapevtski potencial, vendar je njihova glavna omejitev slaba vodonopnost ter posledično majhna biološka uporabnost (17, 44, 45).

2.1.2 Elektrostatsko sukanje nanovlaken s celicami in njihov potencial pri zdravljenju raka

Večina človeških organov in tkiv je na mikro- in nanometrski ravni hierarhično organiziranih vlaknatih struktur, ki jih s svojo topografijo, debelino in mehanskimi lastnostmi lahko posnemajo nanovlakna (14). Z vgradnjo živih celic v mrežo nanovlaken ter njihovo tridimenzionalno porazdelitvijo v polimernem ogrodju pa se razširi potencial uporabe takšnih nanovlaken na področje regenerativne medicine ter razvoja dostavnih sistemov za ciljano zdravljenje. Z ustrezno izbiro biokompatibilnih polimerov, kot so šelak, ksantan in karagenani, lahko izdelamo nanovlakna kot dostavne sisteme z želenim profilom sproščanja, ki zagotavljajo optimalno zdravljenje glede na značilnosti posamezne bolezni (46).

Vgradnja celic v takšne nanodostavne sisteme pa predstavlja eno izmed zelo perspektivnih področij raziskav v biomedicini, kjer je odprtih še veliko vprašanj in raziskovalnih izzivov. Metodo elektrostatskega sukanja nanovlaken s celicami sta šele pred dobrim desetletjem začela razvijati Townsend-Nicholson ter Jayasinghe (47). To so bili prvi poskusi vključevanja živih celic v biokompatibilno polimerno ogrodje, danes pa ima ta metoda vodilno mesto na področju vgradnje celic v nanovlakna. V večini primerov v ta namen uporabljamo elektrostatsko sukanje z uporabo koaksialne šobe (47). K uspešnosti in razširjenosti uporabe metode je zagotovo v veliki meri prispevalo dejstvo, da sam proces, če je ustrezno nadzorovan, ne vpliva na biološko aktivnost uporabljenih celic (48).

Raziskovalna skupina Chena je na osnovi elektrostatskega sukanja polivinilalkohola in matičnih celic izdelala bioaktivno membrano, namenjeno uporabi na področju regenerativne terapije. Matične celice, vgrajene v vlakna, so dali v petrijevko z ustreznim medijem ter spremljali proliferacijo in preživetje celic. Ugotovili so večjo proliferacijo in preživetje matičnih celic, ki so bile vgrajene v vlakna, v primerjavi s samimi matičnimi celicami v kulturi. Tako so potrdili potencial in uporabnost elektrostatskega sukanja celic za uporabo na področju obnove tkiv (49).

3 SKLEP

Razvoj novih zdravil za zdravljenje raka je zaradi kompleksnosti bolezni in specifičnih lastnosti protirakavih učinkovin velik tehnološki izziv. Med novejšo in perspektivno nanodostavne sisteme, ki ponujajo ogromno možnosti za napredno in učinkovitejše zdravljenje raka z bistveno manj neželenimi učinki v primerjavi s konvencionalnim zdravljenjem, sodijo polimerna nanovlakna. Biokompatibilna polimerna nanovlakna omogočajo vgradnjo relativno velike količine zdravilne učinkovine in so zaradi svojih specifičnih lastnosti, ki so odraz nanometrskih velikosti, primerna tudi za aplikacijo na sluznico ustne votline. Uporaba nanovlaken na sluznici ustne votline bi zdravljenje približala bolniku, saj je bolniku prijazna, ker je neboleča in neinvazivna, izvede pa jo lahko bolnik sam. Prav tako lahko z uporabo različnih polimerov razvijemo dostavni sistem, ki zagotavlja optimalni oz. želeni profil sproščanja učinkovine. Edina omejitev pri izbiri ogrodnega materiala je mukoadhezivnost, ki je potrebna zaradi aplikacije in zadrževanja nanodostavne si-

stema na sluznici ustne votline. Dostavne sisteme na osnovi nanovlaken bi lahko s pridom izkoriščali za zdravljenje lokaliziranih oblik raka ustne votline ter za zdravljenje raznih lezij na ustni sluznici, ki se pogosto pojavijo kot posledica zmanjšane imunske odpornosti pri zdravljenju raka s kemoterapijo. Z aplikacijo nanovlaken na bukalno sluznico pa lahko dosežemo tudi sistemski učinek, s čimer lahko blažimo slabost in bruhanje, ki sta zelo pogosta neželena učinka pri kemoterapiji. S takim inovativnim načinom zdravljenja bi lahko bistveno prispevali k dvigu kakovosti življenja onkoloških bolnikov.

4 LITERATURA

1. WHO. Cancer [Internet]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
2. Gmeiner WH, Ghosh S. Nanotechnology for cancer treatment. *Nanotechnol Rev* [Internet]. 2014 Jan 1;3(2). Available from: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/ntrv-2013-0013/html>
3. Shi J, Votruba AR, Farokhzad OC, Langer R. Nanotechnology in Drug Delivery and Tissue Engineering: From Discovery to Applications. *Nano Lett* [Internet]. 2010 Sep 8;10(9):3223–30. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/nl102184c>
4. Wicki A, Witzigmann D, Balasubramanian V, Huwyler J. Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications. Vol. 200, *Journal of Controlled Release*. Elsevier B.V.; 2015. p. 138–57.
5. Chen Z, Chen Z, Zhang A, Hu J, Wang X, Yang Z. Electrospun nanofibers for cancer diagnosis and therapy. *Biomater Sci* [Internet]. 2016;4(6):922–32. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6BM00070C>
6. Kristl J. Vpliv nanotehnologije na razvoj zdravil. *Farm Vestn*. 2021;63(2):67–73.
7. Jain V, Jain S, Mahajan SC. Nanomedicines Based Drug Delivery Systems for Anti-Cancer Targeting and Treatment. *Curr Drug Deliv* [Internet]. 2015 Apr 23;12(2):177–91. Available from: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1567-2018&volume=12&issue=2&page=177>
8. Obreza A, Šmid - Korbar J, Humar M, Janeš D, Lunder M, Razingar B, et al. Farmacevtski terminološki slovar [Internet]. Humar M, Šmid - Korbar J, >Obreza A, editors. ZRC SAZU, Založba ZRC; 2011. (Terminologiče). Available from: <https://isjfr.zrc-sazu.si/sl/terminologisce/slovarji/farmacevtski#v>
9. Cegnar M, Kerč J. Nanozdravila. *Farm Vestn*. 2012;63(2):82–7.
10. Sebe I, Szabó P, Kállai-Szabó B, Zelkó R. Incorporating small molecules or biologics into nanofibers for optimized drug release: A review. Vol. 494, *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier; 2015. p. 516–30.
11. Kocbek P. Novosti na področju farmacevtske nanotehnologije. *Farm Vestn*. 2012;63(2):75–81.
12. Sridhar R, Venugopal JR, Sundarajan S, Ravichandran R, Ramalingam B, Ramakrishna S. Electrospun nanofibers for pharmaceutical and medical applications. Vol. 21, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. Editions de Sante; 2011. p. 451–68.
13. Hu X, Liu S, Zhou G, Huang Y, Xie Z, Jing X. Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. Vol. 185, *Journal of Controlled Release*. Elsevier; 2014. p. 12–21.
14. Rošič R, Kocbek P, Pelipenko J, Kristl J, Baumgartner S. Nanofibers and their biomedical use. *Acta Pharm* [Internet]. 2013 Sep 1;63(3):295–304. Available from: <https://content.sciendo.com/doi/10.2478/acph-2013-0024>
15. Širc J, Hobzová R, Kostina N, Munzarová M, Jukličková M, Lhotka M, et al. Morphological Characterization of Nanofibers: Methods and Application in Practice. *J Nanomater* [Internet]. 2012;2012:1–14. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/jnm/2012/327369/>
16. Pelipenko J, Kocbek P, Kristl J. Critical attributes of nanofibers: Preparation, drug loading, and tissue regeneration. Vol. 484, *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier; 2015. p. 57–74.
17. Potrč T, Baumgartner S, Roškar R, Planinšek O, Lavrič Z, Kristl J, et al. Electrospun polycaprolactone nanofibers as a potential oromucosal delivery system for poorly water-soluble drugs. *Eur J Pharm Sci*. 2015 May 26;75:101–13.
18. Frenot A, Chronakis IS. Polymer nanofibers assembled by electrospinning. Vol. 8, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. Elsevier BV; 2003. p. 64–75.
19. Ma G, Liu Y, Peng C, Fang D, He B, Nie J. Paclitaxel loaded electrospun porous nanofibers as mat potential application for chemotherapy against prostate cancer. *Carbohydr Polym*. 2011 Aug 15;86(2):505–12.
20. Amna T, Barakat NAM, Hassan MS, Khil MS, Kim HY. Camptothecin loaded poly(ϵ -caprolactone)nanofibers via one-step electrospinning and their cytotoxicity impact. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp*. 2013 Aug 20;431:1–8.
21. Guimarães PPG, Oliveira MF, Gomes ADM, Gontijo SML, Cortés ME, Campos PP, et al. PLGA nanofibers improves the antitumoral effect of daunorubicin. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 2015 Dec 1;136:248–55.
22. Yan S, Xiaoqiang L, Lianjiang T, Chen H, Xiumei M. Poly(l-lactide-co- ϵ -caprolactone) electrospun nanofibers for encapsulating and sustained releasing proteins. *Polymer (Guildf)* [Internet]. 2009 Aug;50(17):4212–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386109005540>
23. Liang D, Hsiao BS, Chu B. Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications. Vol. 59, *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier; 2007. p. 1392–412.
24. Kim TG, Lee DS, Park TG. Controlled protein release from electrospun biodegradable fiber mesh composed of poly(ϵ -caprolactone) and poly(ethylene oxide). *Int J Pharm*. 2007 Jun 29;338(1–2):276–83.
25. Jiang H, Hu Y, Li Y, Zhao P, Zhu K, Chen W. A facile technique to prepare biodegradable coaxial electrospun nanofibers for controlled release of bioactive agents. *J Control Release*. 2005 Nov 28;108(2–3):237–43.
26. Yan E, Fan Y, Sun Z, Gao J, Hao X, Pei S, et al. Biocompatible core-shell electrospun nanofibers as potential application for chemotherapy against ovary cancer. *Mater Sci Eng C*. 2014 Aug 1;41:217–23.
27. Szentivanyi A, Chakradeo T, Zernetsch H, Glasmacher B. Electrospun cellular microenvironments: Understanding controlled release and scaffold structure. Vol. 63, *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier; 2011. p. 209–20.
28. Yu DG, Williams GR, Gao LD, Bligh SWA, Yang JH, Wang X. Coaxial electrospinning with sodium dodecylbenzene sulfonate



- solution for high quality polyacrylonitrile nanofibers. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp.* 2012 Feb 20;396:161–8.
29. Zhang Z, Liu S, Qi Y, Zhou D, Xie Z, Jing X, et al. Time-programmed DCA and oxaliplatin release by multilayered nanofiber mats in prevention of local cancer recurrence following surgery. *J Control Release.* 2016 Aug 10;235:125–33.
 30. Patel VF, Liu F, Brown MB. Advances in oral transmucosal drug delivery. Vol. 153, *Journal of Controlled Release.* Elsevier; 2011. p. 106–16.
 31. Hearnden V, Sankar V, Hull K, Juras DV, Greenberg M, Kerr AR, et al. New developments and opportunities in oral mucosal drug delivery for local and systemic disease. Vol. 64, *Advanced Drug Delivery Reviews.* Elsevier; 2012. p. 16–28.
 32. Lam JKW, Xu Y, Worsley A, Wong ICK. Oral transmucosal drug delivery for pediatric use. Vol. 73, *Advanced Drug Delivery Reviews.* Elsevier; 2014. p. 50–62.
 33. Illangakoon UE, Gill H, Shearman GC, Parhizkar M, Mahalingam S, Chatterton NP, et al. Fast dissolving paracetamol/cafeine nanofibers prepared by electrospinning. *Int J Pharm.* 2014 Dec 30;477(1–2):369–79.
 34. Sudhakar Y, Kuotsu K, Bandyopadhyay AK. Buccal bioadhesive drug delivery - A promising option for orally less efficient drugs. Vol. 114, *Journal of Controlled Release.* Elsevier; 2006. p. 15–40.
 35. Dovšak D. Odkrivanje in zdravljenje predstopenj raka ter raka ustne votline - A promising option for orally less efficient drugs. *Radiol Oncol Assoc Radiol Oncol.* 2006;40(Supplement 1):S9–17.
 36. Singh H, Sharma R, Joshi M, Garg T, Goyal AK, Rath G. Transmucosal delivery of Docetaxel by mucoadhesive polymeric nanofibers. *Artif Cells, Nanomedicine, Biotechnol [Internet].* 2015 Jul 4;43(4):263–9. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/21691401.2014.85442>
 37. Millsop JW, Fazel N. Oral candidiasis. *Clin Dermatol.* 2016 Jul 1;34(4):487–94.
 38. De Sanctis V, Bossi P, Sanguineti G, Trippa F, Ferrari D, Bacigalupo A, et al. Mucositis in head and neck cancer patients treated with radiotherapy and systemic therapies: Literature review and consensus statements. Vol. 100, *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* Elsevier Ireland Ltd; 2016. p. 147–66.
 39. Al-Ansari S, Zecha JAEM, Barasch A, de Lange J, Rozema FR, Raber-Durlacher JE. Oral Mucositis Induced By Anticancer Therapies. *Curr Oral Heal Reports [Internet].* 2015 Dec 19;2(4):202–11. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40496-015-0069-4>
 40. Tonglairoom P, Ngawhirunpat T, Rojanarata T, Kaomongkolgit R, Opanasopit P. Fabrication of a novel scaffold of clotrimazole-microemulsion-containing nanofibers using an electrospinning process for oral candidiasis applications. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2015 Feb 1;126:18–25.
 41. Tonglairoom P, Ngawhirunpat T, Rojanarata T, Panomsuk S, Kaomongkolgit R, Opanasopit P. Fabrication of mucoadhesive chitosan coated polyvinylpyrrolidone/cyclodextrin/clotrimazole sandwich patches for oral candidiasis. *Carbohydr Polym.* 2015 Jul 6;132:173–9.
 42. Sommariva S, Pongiglione B, Tarricone R. Impact of chemotherapy-induced nausea and vomiting on health-related quality of life and resource utilization: A systematic review. Vol. 99, *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* Elsevier Ireland Ltd; 2016. p. 13–36.
 43. Vuddanda PR, Mathew AP, Velaga S. Electrospun nanofiber mats for ultrafast release of ondansetron. *React Funct Polym.* 2016 Feb 1;99:65–72.
 44. Kajdič S, Vrečer F, Kocbek P. Preparation of poloxamer-based nanofibers for enhanced dissolution of carvedilol. *Eur J Pharm Sci.* 2018 May 30;117:331–40.
 45. Kajdič S, Zupančič Š, Rožkar R, Kocbek P. The potential of nanofibers to increase solubility and dissolution rate of the poorly soluble and chemically unstable drug lovastatin. *Int J Pharm.* 2020 Jan 5;573:118809.
 46. Jayasinghe SN. Cell electrospinning: a novel tool for functionalising fibres, scaffolds and membranes with living cells and other advanced materials for regenerative biology and medicine. *Analyst [Internet].* 2013;138(8):2215. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3an36599a>
 47. Townsend-Nicholson A, Jayasinghe SN. Cell Electrospinning: a Unique Biotechnique for Encapsulating Living Organisms for Generating Active Biological Microthreads/Scaffolds. *Biomacromolecules [Internet].* 2006 Dec;7(12):3364–9. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bm060649h>
 48. Bertoncelj V, Pelipenko J, Kristl J, Jeras M, Cukjati M, Kocbek P. Development and bioevaluation of nanofibers with blood-derived growth factors for dermal wound healing. *Eur J Pharm Biopharm.* 2014 Sep 1;88(1):64–74.
 49. Chen H, Liu Y, Hu Q. A novel bioactive membrane by cell electrospinning. *Exp Cell Res.* 2015 Nov 1;338(2):261–6.